第41卷 第1期　　昆 虫 学 报　　Vol. 41, No. 1
1998年2月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Feb., 1998

家蚕不同地理品种分子系统学研究*

夏庆友　周泽扬　鲁　成　向仲怀

（西南农业大学蚕桑丝绸学院　蚕桑学农业部部级重点实验室　重庆　400716）

摘要　利用随机引物扩增多态性DNA（RAPD）标志，在DNA分子水平上对不同系统、化性和眠性共六类59个家蚕 *Bombyx mori* 品种及野蚕 *B. mandarina* 之间的遗传差异进行了研究。在34个随机引物中有12个（35.29%）引物出现稳定的扩增带，扩增总带数为103条，其中86条具多态性，占83.5%，平均每个引物7.2条。利用单匹配相似系数和UPGMA聚类法对结果进行分析，发现其RAPD不但具有品种特异性，而且具有系统特异性，证明中国一化性四眠种为最早从野蚕中分化出来的系统，中国一化性三眠种与中国一化性四眠种在进化上属有显著差异的两个类群。

关键词　家蚕，遗传差异，RAPD，分子系统树

家蚕 *Bombyx mori*（L.）为分类学上的一个物种，但在其漫长的分化历史中，由于地理的隔离而形成了不同的地理种群或生态类型，如中国种、亚热带种、日本种、欧洲种等。每个种群中又有若干个品种，其生态和经济性状均各具特征。研究家蚕不同地理品种的遗传差异、分类、进化和亲缘关系，不但是家蚕种质资源鉴定、保存和利用的依据，而且也是品种培育和推广的理论基础。因而长期以来备受关注。

物种进化的研究，最初由形态入手，以后随着科学与技术的发展，逐渐涉及到生态学、地理学、细胞学、生理及生化学、古生物学以及遗传学等。家蚕方面，有关于染色体[1~3]；血清反应，数量性状[4]，血液酸性磷酸酶及皮肤酯酶同功酶[3,5~8]；血液淀粉酶及消化淀粉酶活性[9]；血液蛋白质电泳[10]；茧色素[11~12]，此外还有考古、文物、历史、古生物古气候学等方面研究[13]。综观历史长达半个多世纪，但就蚕起源和分化而言，仍尚未涉真知之门。

分子遗传学的发展，使人们能通过DNA大分子本身来分析遗传差异，为物种的起源和进化研究开辟了一个新的途径。所提供的大量客观的分子水平上的信息，强有力地推动了起源和进化研究[14]。近几年发展起来的随机扩增多态性DNA（RAPD）技术[15]，以其方便，快速提供DNA多态性的丰富信息，而被广泛用于遗传差异、亲缘关系和进化等研究领域。本研究的主要目的，是利用已建立起来的家蚕随机扩增多态性DNA分析技术[16~17]，对家蚕不同地理品种的遗传差异进行分析，以探讨家蚕的起源和分化。

* 国家自然科学基金资助项目（39570557）
1996-01-22收稿，1996-06-18收修改稿

1 材料与方法

1.1 蚕品种

家蚕各地理品种以西南农业大学家蚕基因库保存品种为基础，其余由中国农科院蚕业研究所、四川省农科院蚕桑研究所、浙江省农科院蚕桑研究所、山东省农科院蚕桑研究所等单位惠赠。野蚕 *Bombyx mandarina*（M.）于西南农大桑园以及重庆市北碚区部分农村采集。以上材料共计60个，其系统、化性、眠性和产地分别列于表1。

表1　品种的系统及来源

编号	品种名	系化眠 统性性	产地	编号	品种名	系化眠 统性性	产地
1	野蚕		北碚	31	诸暨	中一四	浙江
2	意16	欧一四	欧洲	32	延吉种	中一四	吉林
3	欧17	欧一四	欧洲	33	602	中二四	中国
4	C108	中二四	中国	34	N4	日二四	日本
5	大造	热二四	中国	35	3011（D）	中一四	中国
6	三〇四二	中一四	中国	36	BT924	热多四	广东
7	盐城2号	中一四	江苏	37	3054改	热多四	广东
8	甲马池	中一三	四川	38	两河口	中一三	四川
9	温州种	中一四	浙江	39	金光	中一四	中国
10	柘蚕（湖）	中一四	浙江	40	盱胎1	中一四	江苏
11	余杭2	中二四	浙江	41	沛县	中一四	江苏
12	临海20	中二四	浙江	42	灰色卵	中一四	江苏
13	桑蚕（湖）	中一四	浙江	43	734	日二四	日本
14	土白	中二四	湖南	44	中五十四	中二四	浙江
15	临安	中一四	浙江	45	宿迁	中一三	江苏
16	土七	中一三	四川	46	安康4号	中一三	陕西
17	大毛	中一三	四川	47	临城种	中一四	河北
18	土一肉黄园	中一三	四川	48	华八（三五）	中二四	中国
19	二毛	中一三	四川	49	邳县种	中一四	江苏
20	中江土种	中一三	四川	50	武功土种	中一三	陕西
21	土三虎斑	中一三	四川	51	松花蚕姬	中一四	江苏
22	土八	中一三	四川	52	秋3	中二四	中国
23	松花形（吴）	中二四	江苏	53	华园	中一四	中国
24	余杭24	中一四	浙江	54	泗洪15	中一四	江苏
25	余杭7	中二四	浙江	55	苏17	中二四	中国
26	余杭2化（甲）	中二四	浙江	56	碧莲	中一四	江苏
27	三五七	中一四	中国	57	邯郸种	中一四	河北
28	太湖	中二四	浙江	58	柬埔寨	热多四	柬埔寨
29	土种01	中一四	四川	59	义乌10	中一四	浙江
30	玉种	中一四	江苏	60	黔三眠	中一三	贵州

1.2 模板DNA制备

模板DNA制备参照Sharp[18]及Yang[19]方法。蚕品种于1995年春季饲养，在五龄第三日解剖后部丝腺，每品种15头蚕。取丝腺1.5 g，液氮研磨成粉末，加3 mL提取缓冲液(10 mmol/L TrisHCl pH 8.0，0.1 mmol/L EDTA，0.5%SDS)和Protease K至终浓度50 μg/mL，转入5 mL离心管后于50℃恒温振荡3 h，加等体积平衡酚，倒转离心管数次使成乳状，3 000 r/min离心20 min，吸出水相，用酚重抽一次后加2/3体积的异丙醇沉淀DNA，取出DNA沉淀后在70%乙醇中洗2次，抽干并加2 mL TE缓冲液(10 mmol/L TrisHCl pH 7.6，0.1 mmol/L EDTA pH 8.0)及无DNase的RNase至终浓度25 μg/mL，37℃保温2 h。按前述方法分别用酚抽提2次，酚、氯仿、异戊醇抽提1次，氯仿抽提2次后，加2倍体积-20℃ 95%乙醇于-20℃中沉淀DNA，沉淀用70%乙醇洗2次后抽干，加TE溶解稀释，-20℃保存。

1.3 PCR体系及扩增程序

参照Williams[15]的方法进行，反应总体积25 μL，含有100 mmol/L TrisHCl，pH 8.3，500 mmol/L KCl，0.001% gelatin，2 mmol/L $MgCl_2$，dATP、dTTP、dGTP和dCTP各150 μmol/L(Promega)，随机引物0.2 μmol/L(Operon)，20 ng模板DNA，1个单位*Tag* DNA聚合酶(Promega)。反应采用oil-free管在Tehermolyne Amplitron Ⅰ型DNA合成仪上进行，程序为94 ℃变性30 s，40 ℃退火60 s，72℃延伸90 s，35个循环后接72 ℃ 10 min。产物在1.3%琼脂糖凝胶中电泳3 h，经EB染色后在紫外灯下观察拍照。随机引物为：OPO-02、OPO-04、OPO-07、OPO-12、OPO-13、OPO-14、OPO-15、OPO-16、OPO-18、OPI-01、OPI-02、OPI-03、OPI-04、OPI-06、OPI-07、OPI-09、OPI-10、OPI-13、OPI-14、OPG-02、OPG-03、OPG-06、OPG-07、OPG-10、OPG-11、OPG-12、OPG-13、OPG-14、OPG-15、OPG-16、OPG-17、OPG-18、OPG-19、OPG-20、共34个。

1.4 数据分析

对每一个引物而言，将在特定位置出现扩增带的记为“1”，未出现扩增带的记为“0”，以此计算单匹配系数(simple matching coefficients of similarity)[20]。

$SM=(a+d)/(a+b+c+d)$，其中a为两品种皆为1的条数，d为两品种皆为0的条数，b和c为两品种错配的条数(一个为1，一个为0)。以此计算：

$$SM_{iB}=\frac{1}{m}\sum_{j=1}^{m}SM_{ji} \qquad SM_{AB}=\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}SM_{iB}$$

其中n和m分别为A和B系统的品种数，SM_{iB}为A系统内第i个品种与B系统所有品种的平均相似系数，SM_{AB}为A和B两系统间的平均相似系数，当$A=B$时，SM_{AB}为系统内相似系数。使用算术平均的不加权对群法(unweighted pair-group method with arithmetical average UPGMA)，分别对所有品种和系统间的单匹配系数进行聚类得到树形图。

2 结果与分析

2.1 引物的筛选及扩增结果

在所用的34个随机引物中，有12个随机引物出现稳定的扩增带，占35.29%，其碱基序列及扩增带数见表2。

表2　随机引物序列及扩增带数

随机引物编号	碱基序列	G+C 含量（%）	扩增带数	多态性带数	多态性带数比例（%）
OPO-02	5′-ACGTAGCGTC-3′	60	6	4	66.67
OPO-04	5′-AAGTCCGCTC-3′	60	11	10	90.91
OPO-07	5′-CAGCACTGAC-3′	60	6	5	83.33
OPO-12	5′-CAGTGCTGTC-3′	60	13	11	84.62
OPO-15	5′-TGGCGTCCTT-3′	60	9	8	88.89
OPG-02	5′-GGCACTGAGG-3′	70	7	6	85.71
OPG-06	5′-GTGCCTAACC-3′	60	4	3	75.00
OPG-11	5′-TGCCCGTCGT-3′	70	12	11	91.67
OPG-14	5′-GGATGAGACC-3′	60	8	6	75.00
OPG-18	5′-GGCTCATGTG-3′	60	13	12	92.31
OPG-19	5′-GTCAGGGCAA-3′	60	10	7	70.00
OPI-09	5′-TGGAGAGCAG-3′	60	4	3	75.00
合计平均		61.67	103	86	83.50

从表2可见，12个随机引物总扩增带数为103条，平均每个随机引物扩增8.6条。扩增带数最多的为 OPO-12和 OPG-18，均为13条；最少的为 OPI-09，为4条带。103条扩增带中有86条表现为多态性，占82.52%，平均每个引物多态性条带数为7.2。多态性条带比例最大为 OPG-18，达92.31%，最低的为 OPO-02，只有66.67%。可见因随机引物不同，扩增产物均有显著差异。

2.2 品种间的 RAPD 多态性

以 OPG-18、OPG-19、OPO-12为例，其各品种及野蚕的 RAPD 模式见图1、图2和图3。

从图1可见，OPG-18的总扩增带数为13条，其中12条在品种间出现多态性。出现扩增带最多的为意16、松花形（吴）和黔三眠，共8条，最少的为土七，仅有1条。扩增产物中有品种特有带2条(图中箭头所指)，一条为意16所有，一条为松花形（吴）所有。所有12个引物中，平均每个品种有带的出现率为54.9%。

表3　各系统间扩增带数平均值

系统	品种数	扩增带平均数
中国一化性四眠种	25	55.2
中国二化性四眠种	13	58.46
中国一化性三眠种	13	57.08
日本种	2	58
热带种	4	56
欧洲种	2	57
野蚕	1	57

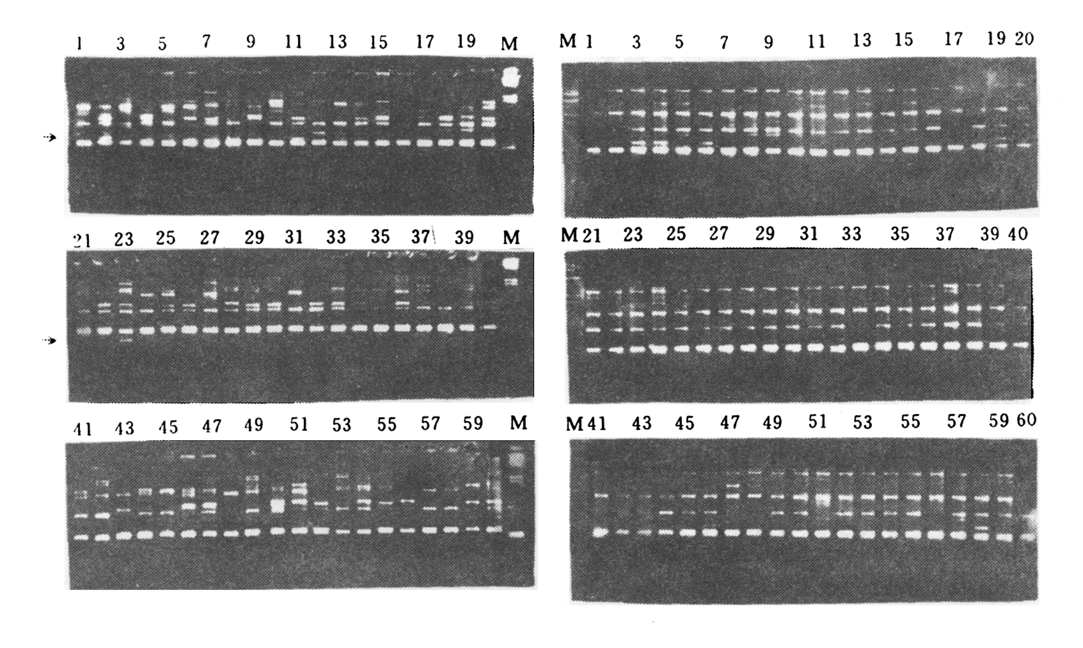


图1 家蚕不同地理品种及野蚕的 RAPD 扩增图（OPG-18）

1～60为品种编号（同表1），M 为分子量标记（λDNA/*Hind* Ⅲ），图2同此

图2 家蚕不同地理品种及野蚕的 RAPD 扩增图（OPG-19）

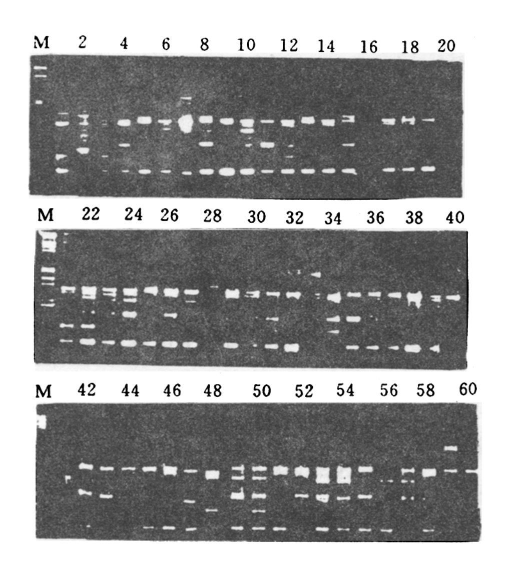


图3 家蚕不同地理品种及野蚕的 RAPD 扩增图（OPO-12）

1～60为品种编号（同表1），M 为分子量标记（PBR328/*Bam*HI+*Bgl*I+*Hinf*I）

2.3 系统间 RAPD 多态性

依系统而言，其出现的带数各不相同，如表3。平均出现带数最多为中国二化性四眠种，达58.46条，以下依次为日本种58条，中国一化性三眠种57.08条，欧洲种57条，野蚕57条，热带种56条，最少的为中国一化性四眠种、仅有55.2条。其中发现不少是系统特有带。

2.4 品种间 UPGMA 系统聚类

用 UPGMA 方法对品种间的 *SM* 进行聚类，得到如图4的树形图。从该聚类图发现，除个别品种外，多数品种均按所属系统聚为相对集中的一群。但中国一化性种内明显分为遗传关系较远的两类，一为中国一化性四眠种，一为中国一化性三眠种。即中国一化性三眠种与中国一化性四眠种，中国二化性种、

日本种、热带种和欧洲种等相比较，表现为独立的一类，故在以后的系统分析中将中国一化性种分为四眠种和三眠种两类。

2.5　系统间的单匹配相似系数矩阵

各系统与野蚕的相似系数矩阵见表4

表4　各系统与野蚕的 *SM* 相似系数矩阵

	中国一化性四眠种	中国二化性四眠种	中国一化性三眠种	日本种	热带种	欧洲种	野蚕
中国一化性四眠种	0.76	0.731	0.724	0.690	0.731	0.696	0.650
中国二化性四眠种		0.799	0.699	0.683	0.723	0.677	0.626
中国一化性三眠种			0.778	0.680	0.727	0.656	0.641
热带种					0.835	0.697	0.597
欧洲种						0.884	0.612
野蚕							1

表中可见，系统内相似系数总是大于该系统与其它系统间的相似系数，表明 RAPD 多态性具有系统特异性。中国一化性四眠种和三眠种，其系统内相似系数分别为0.760和0.778，明显高于与其它系统之间的相似系数，但两者之间的相似系数为0.724，已小于中国一化性四眠种和三眠种分别与热带种之间的相似系数，此亦表明中国一化性三眠种和中国一化性四眠种各具特征，应分别作为独立的两类。与野蚕间的单匹配系数，以中国一化性四眠种最大，为0.650，其余依次为日本种、中国二化性种、欧洲种、中国一化性三眠种和热带种。

2.6　系统间的系统聚类图

采用 UPGMA 聚类法，以表4的相似系数为依据，对系统进行聚类，得到如图5所示之系统聚类图。从图中所见，最为接近的两类为中国一化四眠种与热带种，聚类水平为0.731，其后又依次与中国二化性四眠种和中国一化性三眠种分别在0.727和0.717水平上聚为一大类。另一类包括日本种和欧洲种，聚类水平为0.714。而野蚕与所有系统间的距离

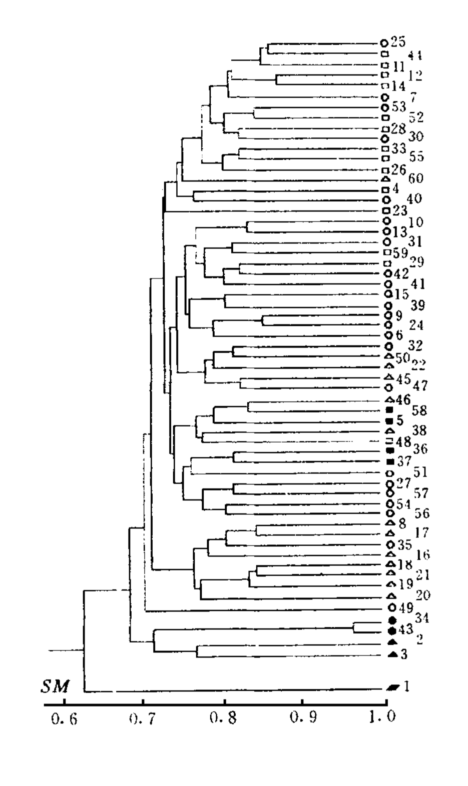


图4　家蚕各品种及野蚕的系统聚类图

○：中国一化性四眠种；Δ：中国一化性三眠种；●：日本种；▲：欧洲种；□：中国一化性四眠性；■：热带种；▰：野蚕；*SM*：相似系数

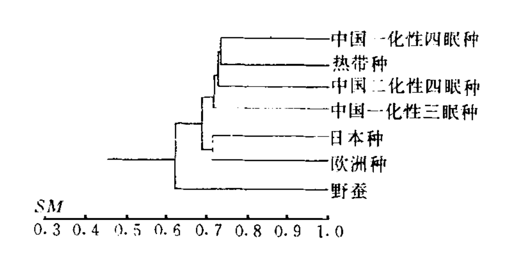


图5 家蚕不同地理类型种的系统聚类图

SM：相似系数

最远，只在0.623的水平上与各家蚕地理类型种聚为一类。

3 讨论

RAPD 的数据分析方法，是 RAPD 研究中的一个重要环节。已有报道中，主要以 Nei & Li[21~25]和 Jaccard[26~30]相似系数作为计算遗传相似系数或直接进行聚类分析。计算方法分别是：$F=2Nxy/(Nx+Ny)$，$JS=Nxy/(Nx+Ny)$，其中 F 为 Nei 相似系数，JS 为 Jaccard 相似系数，Nxy 为两个 DNA 样品共同拥有的扩增带数，Nx 和 Ny 分别为两个 DNA 样品的扩增带数。此外尚有其它分析方法[31~32]。这些方法均以两个 DNA 样品所共同拥有的扩增带为基础，而忽略负匹配 (negative match)，即两 DNA 样品均无扩增带的位点。它是建立在这样一个假设基础上，即引起扩增带消失的原因，在不同 DNA 样品中有所不同。因此，对于遗传距离越远的两个样品，这种假设成立的机会就越大。这就是在研究物种间遗传差异时多采用这些分析法的原因。而在遗传关系很近的两个样本，引起扩增带消失的原因极可能相同，忽略负匹配就可能带来分析上的误差。单匹配相似系数，就是以正匹配和负匹配两种类型为基础进行分析，在对同种内不同品种进行 RAPD 研究时，可能比 Nei 相似系数等更能客观地反映遗传差异。采用此方法的目前有芒果[33]和番木瓜树[34]。家蚕不同地理品种类型，均属种内差异。本研究中对 *SM* 相似系数与 Nei 相似系数等多种相似系数进行比较，亦发现 *SM* 相似系数更适合于家蚕种内的遗传差异分析。

利用 RAPD 研究遗传差异和物种分类进化的报道颇多。从涉及到的数十种动植物来看，均表明 RAPD 是强有力的技术，与同功酶等技术相比，有快速、准确和提供信息量多的优点，研究的方法体系也日趋完善。本研究初步表明家蚕 RAPD 多态性不仅具有品种的特异性，而且具有系统的特异性，表明 RAPD 为研究家蚕品种遗传差异的一种有效方法。

家蚕由野桑蚕驯化而来，已为多数学者公认。但对家蚕各系统分化的求索却有不同观点。蒋猷龙[13]认为多化性分化最早，有多个起源中心。吉武成美依据同功酶多态性，提出中国一化性品种为家蚕的起源中心[6]，以后蒋同庆等[3]据酯酶同功酶研究，支持中国一化性为起源中心的观点。蒲生卓磨等[10]对大量地方品种的血液蛋白质多态型进行研究，亦得出中国一化性种为家蚕各系统中最早分化出来的系统。根据本试验结果，从各系统与野蚕之间的 *SM* 相似系数看，也以中国一化性四眠种为最大，由此推论，从野蚕中最初分化出来的，应为中国一化性四眠种。与中国一化性四眠种的相似系数，在家蚕各系统中以热带种和中国二化性四眠种最大，同为0.731。在系统聚类中中国一化性四眠种和热带种首先聚为一类，随即又与中国二化性四眠种聚为一类。但热带种等与野蚕间的 *SM* 相似系数却较小，表明它们虽然不是从野蚕中首先分化者，但在其以后家蚕各系统的形成中，中国二化性四眠种和热带种应较其它系统早。在前人研究中，均将中国一化性的三眠种和四

眠种视为一类，而本研究证明中国一化性四眠种与三眠种之间的相似系数已小于与热带种等系统间的相似系数，表明两者在进化上应属不同的类群。

参 考 文 献

1 谷津直透．家蚕と野蚕との染色体．蚕丝会报，1913，22：259
2 曾锦标．家蚕与野蚕的杂交及染色体的初步观察．蚕桑通报，1978，(4)：21～24
3 蒋同庆，向仲怀等．家蚕血液酯酶的生化遗传学研究．蚕学通讯，1986，86 (4)：19～33
4 杨希哲，蒋同庆等．家蚕与桑蚕(野)一些数量性状的比较研究．蚕学通讯，1984，84 (2)：42～60
5 吉武成美．カイコの幼虫血液におイナる酸性ホスハターゼ型の品种间差异について，日本蚕丝学杂志，1965，34 (2)：99～103
6 吉武成美．家蚕日本种の起源に关する-考察．日本蚕丝学杂志，1967，37 (2)：83～87
7 何家禄．家蚕血液酯酶同功酶．蚕业科学，1981，7 (1)：65～67
8 何家禄等．家蚕不同品种血液酯酶图谱的研究．蚕业科学，1983，9 (2)：103～106
9 松村季美．家蚕における日本种、支那种、印度支那种及び欧罗巴种のろシーゼ型の分布．蚕丝试验场报告，1951，(13)：521～533
10 蒲生卓磨等．血液の蛋白质多型にもとづく蚕品种の系统发生学的研究．蚕丝试验场报告，1980，28 (1)：15～50
11 藤本直正等．茧の色素に关する研究．日本蚕丝学杂志，1959，28 (1)：30～32，28 (2)：84～87
12 藤本直正等．茧の色素に关する研究．日本蚕丝学杂志，1960，29 (5)：420～424，29 (6)：495～500
13 蒋猷龙．家蚕的起源和分化．南京：江苏科技出版社，1982
14 Langridge J. Molecular Genetics and Comparative Evolution. Research Studies Press Ltd, England, 1991
15 Williams J G k *et al*. DNA polymorphisms amplified by arbitary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res., 1990, 18: 6531～6535
16 夏庆友等．家蚕 RAPD 的扩增条件、重复性及遗传模型研究．蚕业科学，1996，22 (1)：20～25
17 夏庆友等．家蚕 *Y*，NI^1基因和 Z 染色体的 RAPD 分子标记研究．西南农业大学学报，1996，18 (2)：112～118
18 Sharp P J *et al*. Location of β-amylase sequences in wheat and its relatives. Theor. Appl. Genet., 1988, 75: 286～290
19 Yang X *et al*. Identification and classification of celery cultivars with RAPD markers. Theor. Appl. Genet, 1993, 86: 205～212
20 Sokal R R *et al*. A statistical method for evaluating systematic relationships. Univ. Kan. Sci. Bull., 1958, 38: 1409～1438
21 Nei M *et al*. Mathematical model for studying genetical variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1979, 74: 5 267～5 273
22 Orozco-Castillo C *et al*. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. Theor. Appl. Genet., 1994, 87: 934～940
23 Chalmers K J *et al*. Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. maculata* using RAPD markers. Heredity, 1992, 69: 465～472
24 Ismail Dweikat *et al*. Pedigree assessment using RAPD-DGGE in cereal crop species. Theor. Appl. Genet., 1993, 85: 497～505
25 Apostol B L *et al*. Estimation of the number of full sibling families at an oviposition site using RAPD-PCR markers: applications to the mosquito. Theor. Appl. Genet., 1993, 86: 991～1 000
26 Jaccard P. Nouvelles recherches surla distribuation florale. Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat., 1908, 44: 223～270
27 Richard A, Vierling R A *et al*. Use of RAPD markers to determine the genetic diversity of diploid, wheat geno-

types. Theor. Appl. Genet., 1992, 84: 835~838

28 Yu L-X *et al.* Genetic variation detected with RAPD markers among upland and lowland rice cultivars (*Oryza sativa* L.) Theor. Appl. Genet., 1994, 87: 668~672

29 Heun M *et al.* A comparison of RAPD and isozyme analyses for determining the genetic relationships among *Avena sterilis* L. accessions. Theor. Appl. Genet., 1994, 87: 689~696

30 Jain A *et al.* Potential use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique to study the genetic diversity in Indian mustard and its relationships to heterosis. Theor. Appl. Genet., 1994, 88: 116~122

31 Hulf D R *et al.* RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss. Theor. Appl. Genet., 1993, 86: 927~934

32 Tinker N A *et al.* Random amplified polymorphic DNA and pedigree relationships in spring barley. Theor. Appl. Genet., 1993, 85: 976~984

33 Schnell R J *et al.* Identification of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* L. using RAPD markers. Theor. Appl. Genet., 1995, 90: 269~274

34 Stiles J I *et al.* Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. Theor. Appl. Genet., 1993, 85: 697~701

MOLECULAR PHYLOGENETIC STUDY ON THE RACIAL DIFFERENTIATION OF *BOMBYX MORI* BY RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD) MARKERS

Xia Qingyou Zhou Zeyang Lu Cheng Xiang Zhonghuai

(The Key Sericultural Laboratory of Agricultural Ministry, College of Sericulture & Silk, Southwest Agricultural University Chongqing 400716)

Abstract The genetic diversity of fifty-nine silkworm strains and mulberry wild silkworm, *Bombyx mandarina* (M.), was investigated at DNA level using the random amplified polymorphic DNA (RAPD) method. Silkworm strains were classified into six groups according to the voltinism, moltinism and the geographic areas initially obtained. Of 34 arbitrary 10-base primers that were tested, 12 (35.29%) were informative and yielded 103 bands, 86 (83.5%) of which were polymorphic bands with a mean of 7.2 bands per primer. RAPD data were used to generate simple matching coefficients of similarity (*SM*). The *SM* were then used to construct a dendrogram by unweighted pair-group method with arithmetical averages (UPGMA). The study indicated that RAPD were race-specific and geographic group-specific markers in silkworm; Chinese univoltine tetramoltine varieties seems to be differentiated form *Bombyx mandarina* M. in the earliest year; Chinese univoltine varieties should be placed into two distinct groups, i.e., trimoltine varieties and tetramoltine varieties.

Key words *Bombyx mori* (L.), *Bombyx mandarina* (M.), genetic diversity, RAPD, molecular dendrogram